

УДК 616/.12-025.1-015.1-05:612.015

DOI

М. І. Ганусевич, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ДОСЛІДЖЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАСТОЙКИ З ТРАВИ КОРОВ'ЯКА ЗВИЧАЙНОГО

В експерименті на щурах, яким змодельовано адреналінову кардіопатію, встановлено антиоксидантні, мембрано- та кардіопротекторні властивості настойки з трави коров'яка звичайного. Доведено, що даний фармакологічний препарат у дозі 0,2 мл/кг маси тіла викликає зниження активності процесів ліпопероксидації в сироватці крові та міокарді тварин, відновлення показників антиоксидантної системи і зменшення проникності мембран гепатоцитів, про що свідчать зниження активності аміотрансфераз у сироватці крові та збільшення їх у міокарді. Отримані результати вказують на доцільність подальшого дослідження фармакологічних властивостей настойки з трави коров'яка звичайного.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: адреналінова кардіопатія, настойка з трави коров'яка звичайного, антиоксидантні властивості, мембранопротекторні властивості, кардіопротекторні властивості.

ВСТУП. Останнім часом в Україні патологія серця становить 64 % від загальної кількості захворювань та 1/3 усіх випадків первинної інвалідності [7, 13]. Атеросклероз, стенокардія, інфаркт міокарда стали серйозно загрожувати населенню нашої країни. Зокрема, в Україні показник летальності від ішемічної хвороби серця залишається одним із найвищих серед країн Європи. Сучасні лікарські засоби, які використовують для лікування захворювань серцево-судинної системи, здебільшого мають низку побічних ефектів. У зв'язку з цим, для науковців стає актуальною проблема розробки і дослідження безпечних та ефективних препаратів з метою застосування в кардіології. Для лікування серцево-судинних захворювань усе частіше використовують фармакологічні препарати метаболічної і цитопротекторної дії рослинного походження [3]. Під час досліджень, проведених в останні роки, встановлено, що в патогенезі захворювань міокарда важливу роль відіграє активація процесів вільнорадикального окиснення, які призводять до ушкодження та загибелі кардіоцитів [1, 2, 4]. З огляду на це, в комплексній терапії захворювань найширше застосовують лікарські засоби з антиоксидантними властивостями, зокрема флавоноїдної структури [3].

Нашу увагу привернув коров'як звичайний (*Verbascum thapsus*) родини Ранникові (*Scrophulariaceae*). Рослину, яка має великий спектр біо-

логічно активних речовин, широко використовують в народній медицині [5].

Метою даної роботи було вивчити ефективність застосування настойки з трави коров'яка звичайного для корекції порушень в організмі щурів за умов ураження серця підвищеними дозами адреналіну. Настойку виготовлено у НФаУ на кафедрі хімії природних сполук під керівництвом професора В. С. Кисліченко та надано нам для досліджень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експеримент виконано на 42 нелінійних білих щурах-самцях масою 170–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.

Для проведення відповідного дослідження тварин було поділено на чотири групи: 1-ша – контрольні тварини (інтактний контроль); 2-га – тварини, уражені адреналіном (0,18 % розчин) у дозі 0,5 мг/кг маси тіла (одноразово), шлях введення – внутрішньом'язово [11]; 3-тя – тварини, уражені адреналіном та ліковані настойкою з трави коров'яка в дозі 0,2 мл/кг маси тіла, шлях введення – інтрагастрально; 4-та – тварини, уражені адреналіном та ліковані корвітином у дозі 42 мг/кг маси тіла, шлях введення – внутрішньовенно (у хвостову вену) [12].

При вивченні кардіопротекторної та антиоксидантної активності досліджуваної субстанції

© М. І. Ганусевич, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький, 2016.

як препарат порівняння використовували “Корвітин” (виробництва ЗАТ НВЦ “Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод”, м. Київ) – лікарський засіб з антиоксидантною активністю. Значення дози препарату порівняння обирали, спираючись на інструкцію до застосування та використовуючи коефіцієнти видової чутливості Ю. Р. Риболівлева і його метод перерахунку дози для людини на дозу для щура [15]. Умовно-терапевтична доза для щура становила 42 мг/кг.

Через 24 та 48 год від початку введення адреналіну щурів піддавали евтаназії під тіопенталовим наркозом. Показники метаболізму досліджували в сироватці крові та міокарді тварин. Вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) визначали в реакції з тіобарбітуровою кислотою [10], активність супероксиддисмутази (СОД) – з нітротетразолієм синім [4], вміст церулоплазміну (ЦП) оцінювали за реакцією з гідроксиламіном солянокислим [8], активність амінотрансфераз – із 2,4-динітрофенілгідразином [14].

Експеримент виконано з дотриманням загальних правил і положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001) [6]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що введення адреналіну в дозі 0,5 мг/кг маси тіла призводило до активації процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у гомогенатах міокарда та сироватці крові щурів. Результати дослідження даних показників наведено в таблиці 1.

Через 24 год вміст ТБК-АП у сироватці крові уражених тварин збільшився в 1,7 раза, через 48 год – у 2 рази. У міокарді спостерігали аналогічну тенденцію до підвищення даного показника у 2,4 та 2,3 раза у відповідні терміни дослідження.

Застосування настойки з трави коров'яка звичайного виявилось ефективним в обидва терміни дослідження як у сироватці крові, так і в міокарді тварин після ураження адреналіном. Вміст ТБК-АП після її введення в організм тварин значно знизився у досліджуваних тканинах. Препарат порівняння “Корвітин” проявив більш ефективний вплив, особливо в кінці експерименту.

Отримані результати вказують на те, що в кардіоцитах і сироватці крові піддослідних тварин проходила активація вільнорадикальних процесів, яка супроводжувалася посиленням процесів ліпопероксидації та нагромадженням ендогенних токсичних продуктів ПОЛ. На нашу думку, це є наслідком посиленого викиду катехоламінів у стресовій ситуації та утворення значної кількості активних форм кисню.

Використання настойки з трави коров'яка звичайного призвело до зниження активності процесів ліпопероксидації в уражених тварин, що дозволило підтвердити передбачувані антиоксидантні властивості цього фармакологічного засобу, зумовлені наявністю у траві рослини значної кількості біологічно активних речовин, що викликають даний ефект [5].

Ураження серця токсичною дозою адреналіну супроводжувалось інтенсифікацією вільнорадикальних реакцій у міокарді та сироватці крові, що неминуче призводило до розвитку ендогенної інтоксикації організму, деструкції та дестабілізації клітинних мембран, деградації їх ліпідних і білкових компонентів. Як наслідок можуть відбуватися зміни активності багатьох ферментів. Виявлені порушення призводили до порушень захисно-компенсаторних сил, особливо антиоксидантної системи.

Застосування адреналіну призвело до значного підвищення в сироватці крові вмісту церулоплазміну (табл. 2) – ферменту, який нейтралізує супероксидні та гідроксильні радикали ($O_2^{\cdot -}$ та OH^{\cdot}), тобто проявляє дію, аналогічну дії внутрішньоклітинної дисмутази. Вміст ЦП зріс в 1,45 та 1,52 раза через 24 і 48 год відповідно. До кінця експерименту він виявився найбільшим і на 52 % перевищував рівень контрольних тварин.

Таблиця 1 – Вміст ТБК-АП у сироватці крові та міокарді щурів, уражених адреналіном, після введення настойки з трави коров'яка звичайного та корвітину ($M \pm m$, $n=42$)

Група тварин	Сироватка крові, мкмоль/л		Міокард, мкмоль/кг	
	термін дослідження, год			
	24	48	24	48
Інтактний контроль	2,50±0,17		0,75±0,03	
Уражені адреналіном	4,30±0,15*	4,90±0,14*	1,80±0,12*	1,75±0,13*
Уражені+ліковані настойкою, 0,2 мл/кг	3,65±0,14**	4,15±0,13**	1,30±0,15**	1,25±0,09**
Уражені+ліковані корвітином, 42 мг/кг	3,15±0,13**	3,95±0,15**	1,17±0,10**	0,95±0,07**

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$); ** – вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Таблиця 2 – Активність СОД і вміст ЦП у сироватці крові щурів, уражених адреналіном, після введення екстракту з трави коров'яка звичайного та корвітину ($M \pm m$, $n=42$)

Група тварин	СОД, мкмоль/л		ЦП, мг/л	
	термін дослідження, год			
	24	48	24	48
Інтактний контроль	40,2±1,3		10,5±0,3	
Уражені адреналіном	32,5±1,2*	30,0±1,5*	15,3±0,4*	16,0±0,7*
Уражені+ліковані настойкою, 0,2 мл/кг	35,4±1,2**	38,2±1,4**	12,3±0,5**	14,5±0,5**
Уражені+ліковані корвітином, 42 мг/кг	37,5±1,3**	39,5±1,6**	11,2±0,4**	12,0±0,4**

Використані нами коригувальні засоби викликали зниження вмісту церулоплазміну. Через 24 год від початку експерименту він становив 117 % при застосуванні досліджуваної настойки та 107 % після використання корвітину. В останній термін дослідження (через 48 год) вміст ЦП зменшився на 14 % після введення в організм настойки і на 38 % – корвітину порівняно з контрольною патологією.

З таблиці 2 видно, що ураження серця адреналіном супроводжувалося зниженням у сироватці крові активності одного з наймогутніших ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази [4]. Активність ензиму через 48 год від початку розвитку кардіопатії у крові щурів становила 75 % від рівня інтактного контролю. Після застосування досліджуваної настойки вона збільшилась на 20 %, корвітину – на 23 %, що вказує на односторонність дії коригувальних чинників.

Відомо, що токсичні метаболіти ПОЛ спричиняють деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран, призводять до розвитку токсемії – виходу в кров з локального осередку токсинів, що викликають генералізацію патологічного процесу [4].

Внутрішньом'язове введення адреналіну (0,5 мг/кг маси тіла) спричиняло ушкодження

міокарда різної інтенсивності, про що свідчило зростання активності аспартат- і аланінаміно-трансфераз (АсАТ та АлАТ) у сироватці крові тварин протягом 48 год після ураження. Результати нашого дослідження наведено в таблиці 3.

Через 24 год після ураження адреналіном активність АсАТ у сироватці крові щурів зросла в 1,9 раза, активність АлАТ – в 1,4 раза. Аналогічне зростання відмічено через 48 год з моменту застосування адреналіну: АсАТ – у 2,2 раза, АлАТ – в 1,5 раза.

Отримані результати свідчать про цитоліз кардіоцитів, під дією токсичного чинника збільшувалася проникність їх мембран і внутрішньоклітинні компоненти потрапляли в кров, де ми реєстрували значне підвищення їх активності.

Після застосування настойки з трави коров'яка звичайного активність АсАТ достовірно знижувалась через 24 год від початку експерименту. Використання корвітину виявилось дещо ефективнішим в обидва терміни дослідження, хоча введення в уражений організм настойки з трави коров'яка звичайного при дослідженні активності цього ензиму теж позитивно вплинуло на даний показник.

Доцільним було дослідити активність даних ензимів у міокарді щурів після застосування адреналіну. Результати наведено в таблиці 4.

Таблиця 3 – Активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів після ураження адреналіном та застосування коригувальних чинників ($M \pm m$, $n=42$)

Група тварин	АсАТ, мкмоль/л·год		АлАТ, мкмоль/л·год	
	термін дослідження, год			
	24	48	24	48
Інтактний контроль	0,25±0,02		0,28±0,02	
Уражені адреналіном	0,48±0,03*	0,54±0,02*	0,40±0,02*	0,42±0,013*
Уражені+ліковані настойкою, 0,2 мл/кг	0,38±0,02**	0,45±0,03	0,36±0,015	0,35±0,012**
Уражені+ліковані корвітином, 42 мг/кг	0,30±0,02**	0,32±0,02**	0,32±0,02**	0,32±0,016**

Таблиця 4 – Активність амінотрансфераз у міокарді щурів після ураження адреналіном та застосування коригувальних чинників ($M \pm m$, $n=42$)

Група тварин	АсАТ, мкмоль/кг·год		АлАТ, мкмоль/кг·год	
	термін дослідження, год			
	24	48	24	48
Інтактний контроль	0,72±0,03		0,56±0,02	
Уражені адреналіном	0,52±0,02*	0,58±0,03*	0,44±0,015*	0,45±0,02*
Уражені+ліковані настойкою, 0,2 мл/кг	0,58±0,03	0,60±0,04	0,48±0,02	0,50±0,015
Уражені+ліковані корвітином, 42 мг/кг	0,65±0,02**	0,68±0,03**	0,50±0,015	0,52±0,03

Відмічено достовірне зниження ($p < 0,05$) активності АсАТ та АлАТ у міокарді тварин протягом всього експерименту після застосування токсичних доз адреналіну.

Після введення настойки з трави коров'яка звичайного активність АсАТ через 24 та 48 год дещо підвищувалась, хоча зміни не були вірогідними порівняно з тваринами, які не отримували її. Активність АсАТ на 24 год зросла на 8 % відносно контрольної патології і на 20 % була нижчою від рівня норми. В останній термін дослідження активність АсАТ після застосування настойки становила 83 % порівняно з інтактними тваринами. Аналогічно на цей показник вплинув корвітин, активність АсАТ у міокарді після його введення підвищилась на 18 % уже через 24 год після ураження.

При дослідженні активності АлАТ ми не спостерігали достовірних відмінностей між

активністю даного ферменту в міокарді тварин усіх дослідних груп після застосування як настойки, так і препарату порівняння.

Отримані результати вказують на те, що досліджувана нами настойка проявляє мембрано- та кардіопротекторні властивості, зокрема нормалізує активність органоспецифічних ферментів міокарда (аспартатамінотрансферази) як у сироватці крові, так і в серці тварин за умов адреналінової міокардіодистрофії.

ВИСНОВКИ. Проведене дослідження підтвердило антиоксидантні, мембрано- та кардіопротекторні властивості настойки з трави коров'яка звичайного, що робить даний фармакологічний препарат перспективним для подальшого його вивчення з метою впровадження у виробництво і застосування в клініці серцево-судинних захворювань.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бизенкова М. Н. О роли активации процессов липопероксидации в механизмах ишемического повреждения миокарда / М. Н. Бизенкова, Н. П. Чеснокова, М. Г. Романцов // *Современные наукоемкие технологии*. – 2006. – № 2. – С. 26–31.
2. Воронцова Н. Л. Свободнорадикальное окисление и миокард / Н. Л. Воронцова, С. А. Бернс, О. Л. Барабаш. – М. : Кемерово, 2006. – 159 с.
3. Антиоксидантные свойства лекарственных растений / В. Ф. Громова, Г. С. Шаповал, И. Е. Миронюк [и др.] // *Химико-фармац. журн.* – 2008. – **42**, № 3. – С. 26–29.
4. Гулага О. І. Процеси ліпопероксидації у хворих на серцеву недостатність / О. І. Гулага, В. К. Ташук, О. С. Полянська // *Буковин. мед. вісн.* – 2010. – **14**, № 2 (54). – С. 122–124.
5. *Енциклопедія народної медицини* / [уклад. і відп. ред. О. Михайлевський]. – Львів : Сполом, 2005. – 1284 с.
6. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте : метод. рек. / под ред. П. И. Сидорова. – Архангельск, 2002. – 84 с.
7. Смертність та інвалідність населення внаслідок серцево-судинних та судинно-мозкових захворювань – проблема сучасності / В. М. Коваленко, А. П. Дорогой, В. М. Корнацький [та ін.] // *Укр. кардіол. журн.* – 2003. – № 6. – С. 9–12.
8. Колб В. Г. Визначення активності церулоплазміну в крові // *Клиническая биохимия* / В. Г. Колб, В. С. Камишников. – Минск : Беларусь, 1976. – С. 219–220.
9. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
10. Луцак В. І. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Луцак, Т. В. Багнюкова, О. В. Луцак // *Укр. біохім. журн.* – 2004. – **26**. – С. 136–141.
11. Маркова О. О. Міокардіодистрофія і реактивність організму / О. О. Маркова. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 150 с.
12. Мойбенко А. Патогенетическое обоснование эффективности нового отечественного кардиопротектора корвитина (водорастворимого кверцетина) при остром инфаркте миокарда / А. Мойбенко // *Вісн. фармакології та фармації*. – 2007. – № 5. – С. 38–47.
13. Передерій В. Г. Стрес і його наслідки / В. Г. Передерій, М. М. Безюк // *Укр. мед. часоп.* – 2003. – № 6. – С. 65–69.
14. Биохимические методы исследования в клинике / под ред. А. А. Покровского. – М. : Медицина, 1969. – 651 с.
15. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // *Докл. АН СССР*. – 1979. – **247**, № 6. – С. 1513–1516.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ НАСТОЙКИ ИЗ ТРАВЫ КОРОВЯКА ОБЫЧНОГО

Резюме

В эксперименте на крысах, которым смоделирована адреналиновая кардиопатия, установлено антиоксидантные, мембрано- и кардиопротекторные свойства настойки из травы коровяка обычного. Доказано, что данный фармакологический препарат в дозе 0,2 мл/кг массы тела вызывает снижение активности процессов липопероксидации в сыворотке крови и миокарде животных, восстановление показателей антиоксидантной системы и уменьшение проницаемости мембран гепатоцитов, о чем свидетельствуют снижение активности аминотрансфераз в сыворотке крови и увеличение их в миокарде. Полученные результаты указывают на целесообразность дальнейшего исследования фармакологических свойств настойки из травы коровяка обычного.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: адреналиновая кардиопатия, настойка из травы коровяка обычного, антиоксидантные свойства, мембранопротекторные свойства, кардиопротекторные свойства.

M. I. Hanusevych, L. S. Fira, P. H. Lykhatskyi
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

RESEARCH OF CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF TINCTURE OF MULLEIN HERBS USUAL

Summary

In experiments on rats, which simulated adrenaline cardiomyopathy there were established antioxidant, membrane- and cardioprotective properties tincture of mullein herb. It is proved that this pharmacological drug at a dose of 0.2 ml/kg body weight causes a decrease in the activity of processes of lipid peroxidation in serum and myocardium of animals, restoring antioxidant system performance and reducing hepatocyte membrane permeability, as indicated by decreased activity of aminotransferases in serum and increase their in the myocardium. The results indicate the feasibility of further study the pharmacological properties of tincture of mullein herb.

KEY WORDS: adrenaline cardiomyopathy, tincture of mullein herb, antioxidant properties, membrane-protective properties, cardioprotective properties.

Отримано 22.02.16

Адреса для листування: Л. С. Фіра, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.